

09/905,777



PCT WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<p>(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : A61K 41/00</p>	<p>A2</p>	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 97/33620 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 18. September 1997 (18.09.97)</p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP97/01337 (22) Internationales Anmeldedatum: 17. März 1997 (17.03.97) (30) Prioritätsdaten: 196 10 348.7 15. März 1996 (15.03.96) DE 196 54 186.7 23. December 1996 (23.12.96) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): PULSION VERW. GMBH & CO. MEDICAL SYSTEMS KG [DE/DE]; Kirchenstrasse 88, D-81675 München (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): GOETZ, Alwin [DE/DE]; Münsinger Strasse 16, D-81477 München (DE). PFEIFFER, Ulrich [DE/DE]; Metzstrasse 29a, D-81667 München (DE). PÜHLER, Gabriela [DE/DE]; Kafferstrasse 1, D-81242 München (DE). (74) Anwalt: WILHELMS, KILIAN & PARTNER; Eduard-Schmid-Strasse 2, D-81541 München (DE).</p>	<p>(81) Bestimmungsstaaten: CA, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i></p>	
<p>(54) Title: COMPOUNDS FOR TREATING TUMOURS (54) Bezeichnung: VERBINDUNGEN ZUR BEHANDLUNG VON TUMOREN (57) Abstract The invention concerns indocyanine green (ICG) or ICG antibody conjugate, optionally mixed with conventional medicament additives or carriers, for the therapeutic treatment of tumours. The invention also concerns the use of these compounds for preparing medicaments for the therapeutic treatment of tumours, and the use of ICG for preparing antibody conjugates. (57) Zusammenfassung Indocyaningrün (ICG) oder ICG-Antikörperkonjugat, ggf. in Mischung mit üblichen Arzneimittelzusätzen oder -trägern, zur therapeutischen Behandlung von Tumoren, ihre Verwendung zur Herstellung von Arzneimitteln für die therapeutische Behandlung von Tumoren und die Verwendung von ICG zur Herstellung von Antikörperkonjugaten.</p>		

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AM	Armenien	GB	Vereinigtes Königreich	MX	Mexiko
AT	Österreich	GE	Georgien	NE	Niger
AU	Australien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BB	Barbados	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BE	Belgien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BF	Burkina Faso	IE	Irland	PL	Polen
BG	Bulgarien	IT	Italien	PT	Portugal
BJ	Benin	JP	Japan	RO	Rumänien
BR	Braasilien	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
BY	Belarus	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CA	Kanada	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KR	Republik Korea	SG	Singapur
CG	Kongo	KZ	Kasachstan	SI	Slowenien
CH	Schweiz	LI	Liechtenstein	SK	Slowakei
CI	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SN	Senegal
CM	Kamerun	LR	Liberia	SZ	Swasiland
CN	China	LK	Litauen	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
EE	Estland	MG	Madagaskar	UG	Uganda
ES	Spanien	ML	Mali	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	MN	Mongolei	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MR	Mauretanien	VN	Vietnam
GA	Gabon	MW	Malawi		

VERBINDUNGEN ZUR BEHANDLUNG VON TUMOREN

Die vorliegende Erfindung betrifft Verbindungen zur Behandlung von Tumoren und deren Verwendung zur Herstellung von Arzneimitteln.

Konventionell werden Tumore derzeit entweder operativ entfernt und/oder die Behandlung erfolgt mit Hilfe von Chemotherapie und/oder durch ionisierende Strahlen. Alle drei Behandlungsmethoden stellen jedoch massive Eingriffe dar, die dem Gewebe entweder schwere Schäden zufügen oder das Allgemeinbefinden des Patienten in hohem Maße beeinträchtigen. Eine weitere vorbekannte Therapiemethode, die derzeit noch keine breite Anwendung findet, ist die sogenannte photodynamische Therapie.

Der Vorteil der photodynamischen Therapie (PDT) besteht in der Reduktion der invasiven Eingriffe am Patienten und damit Senkung des operativen Risikos. Zudem handelt es sich um eine relativ schmerzfreie Methode. Im Gegensatz zu konventionellen operativen Verfahren ist bei der photodynamischen Therapie nur eine Lokal- oder Regionalanästhesie notwendig. Da größere operative Eingriffe vermieden werden, kann die Aufenthaltsdauer der Patienten im Krankenhaus reduziert werden.

- 2 -

Bei der photodynamischen Therapie wird den Patienten ein lichtempfindlicher Arzneistoff intravenös injiziert, der sich nach gewisser Zeit im Tumorgewebe anreichert, wo er mit sichtbarem Licht aktiviert wird. Als Lichtquelle für die Behandlung dient ein konventioneller (Pumpen-) Laser, der über verschiedene, spezielle faseroptische Sonden an den Tumor herangeführt wird. Die Bestrahlung des lichtempfindlichen Arzneistoffes mit energiereichem Licht führt zur Bildung der aktiven Form des molekularen Sauerstoffs (Radikalbildung). Die chemisch veränderten Sauerstoffmoleküle verursachen eine lokale vaskuläre Stauung und in Folge eine Blutung und die Zerstörung der Tumorzellen (Dougherty, T. J., Marcus, S. L.: Eur. J. Cancer 28A (10) (1992), 1734-1742). Die photodynamische Therapie wird bereits bei oberflächlichem Blasenkrebs, Lungenkrebs und Speise-röhrenkrebs erfolgreich eingesetzt.

Der limitierende Faktor der photodynamischen Therapie ist die Fähigkeit des aktivierenden Lichtes, in die zu behandelnden Tumore vorzudringen. Die Penetrationstiefe des Lichtes nimmt dabei mit der Wellenlänge zu, d. h., langwelliges Licht kann tiefer in das Gewebe eindringen als kurzwelliges Licht. So ist die Penetration bei 600 nm ca. 4 mm, bei 800 nm bis zu 8 mm.

Die Absorptionsmaxima der meisten in der photodynamischen Therapie verwendeten Arzneistoffe liegen in einem Bereich von 400-630 nm. Die Gewebepenetration der aktivierenden Lichtstrahlen niedriger Wellenlängen ist darum nicht ausreichend tief genug (Ash, D. V., Brown, S. B.: Eur. J. Cancer Vol. 29A (12), (1993), 1781-1783).

Nachteilig an den vorbekannten, in der photodynamischen Therapie verwendeten Arzneistoffen ist außerdem, daß sie eine geringere Selektivität bezüglich der Akkumulation im Tumorgewebe aufweisen und teilweise relativ lange (vier bis sechs Wochen) im Patienten verweilen, der in diesem Zeitraum vor sichtbarem Licht geschützt werden muß. Zudem benötigen die vorbekannten Arzneistoffe eine aufwendige und teure

Laserausstattung.

Aufgabe der Erfindung ist, Verbindungen zur photodynamischen Therapie zur Verfügung zu stellen, die die aus dem Stand der Technik bekannten Nachteile nicht aufweisen.

Aufgabe der Erfindung ist ferner, die Verwendung dieser Verbindungen zur Herstellung von Arzneimitteln für die photodynamische Therapie zu ermöglichen.

Diese Aufgabe wird durch Arzneimittel gemäß Anspruch 1 gelöst. Weitere Ausgestaltungen der Erfindung werden in den Ansprüchen 2 bis 4 beschrieben. Die Wirksubstanz der beanspruchten Arzneimittel ist Indocyaningrün (ICG) bzw. ICG-Antikörperkonjugat.

Der Wirkstoff Indocyaningrün (ICG, chemische Formel $C_{43}H_{47}N_2NaO_6S_2$) ist ein Diagnostikum, welches bereits erfolgreich in der Herz-, Kreislauf- und Mikrozirkulationsdiagnostik (Lewis, F. R., Pfeiffer, U. J.: EDS, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1990); Haneda, K., Horiuchi, T.: Tohoku J. Exp. Med. 148 (1986), 49; Schad, H., Brechtelsbauer, H., Kramer, K.: Pfluegers Arch. 370 (1977), 139-144), in der Leberfunktionsdiagnostik (Gottlieb, M. E. et al.: Arch. Surg. 119 (1984), 264-268; Leevy, C. M. et al.: Davidson C. (ed.), Thieme, Stuttgart-New York (1979), 42-52; Paumgartner, G. et al.: NY Acad. Sci. 170 (1970), 134-170) und in der Augenhintergrund-Diagnostik (Craandijk A., Van Beek, C. A.: Brit. J. Ophthal. 60 (1976), 377-386; Flower, R. W., Hochheimer, B. F.: The Johns Hopkins Medical Journal 138 (1976), 33-42) eingesetzt wird. Das Absorptionsmaximum des Farbstoffes ICG liegt um 805 nm und das Emmissionsmaximum um 830 nm.

Im Gegensatz zu den vorbekannten Arzneistoffen für die photodynamische Therapie akkumuliert ICG nach der intravenösen Injektion in kurzer Zeit in Tumorgeweben. Außerdem besitzt ICG ein ideales Absorptionsmaximum um 805 nm und ermöglicht somit das Vordringen des Lichtes in tiefere Gewebeschichten (bis zu 8 mm). Das Emmissionsmaximum von ICG von 830 nm läßt zudem die Tumorlokalisation und eine therapeuti-

sche Kontrolle der Behandlung über die Bestimmung der Fluoreszenz zu.

Ein weiterer Vorteil von ICG bei der Verwendung als photodynamisches Therapeutikum ist seine relativ kurze Verweildauer im Kreislauf (Halbwertszeit 3 - 5 Minuten), da der Wirkstoff von der Leber aufgenommen und über diese ausgeschieden wird. Als Lichtquelle während der Therapie kann ein portabler Diodenlaser mit 805 nm verwendet werden, der wesentlich billiger als ein Laser mit niedriger Wellenlänge ist.

Die oben beschriebenen Eigenschaften des Wirkstoffes Indocyaningrün sind auch in der Immunophotodetektion von großem Vorteil. Markiert man beispielsweise spezifische, monoklonale Tumor-Antikörper in vitro mit Indocyaningrün und injiziert die markierten Antikörper in Patienten, so kann man in vivo über die Fluoreszenzbestimmung bei 830 nm Tumore lokalisieren, da die ICG-Antikörperkonjugate in den Tumoren spezifisch angereichert wurden. Die mit ICG-Antikörpern lokalisierten Tumore können anschließend einer photodynamischen Therapie bei 805 nm unterzogen werden. Sofern die spezifischen Antikörper dafür vorhanden sind, sollte mit dieser Methode die Behandlung aller bekannten Tumore möglich sein.

Nach intravenöser Injektion bindet der Wirkstoff ICG innerhalb weniger Sekunden an Globuline, vorzugsweise an α_1 - Lipoprotein (Paumgartner, G.: Schweiz. Med. Wochenz. (Suppl.) 105 (1975), 1-30). Die sekundenschnelle, quantitative Bindung verhindert bei intaktem Endothel und normaler Gefäßpermeabilität die Wirkstoffaufnahme in das periphere Gewebe. Die Behandlungsmethode ist selektiv, da der Wirkstoff in umgebenden Normalgewebe streng im Blutgefäßsystem bleibt und im Tumor extravasal diffundiert. Nach wenigen Minuten befindet sich kein ICG mehr in den Blutgefäßen, so daß das ICG-enthaltende Tumorgewebe vom umgebenden Gewebe gut zu unterscheiden ist. Im Vergleich zu normalen Gefäßen erscheinen Tumorgefäße fragiler und durchlässiger. Tumore zeigen eine

- 5 -

gesteigerte Tendenz zu vaskulärer Permeabilität, die sich durch die vermehrte Diffusion von Plasmaproteinen in das Tumorinterstitium bemerkbar macht. Dadurch tritt auch das an die Plasmaproteine gebundene und photodynamisch wirksame ICG in den interstitiellen Raum aus. In Geweben mit erhöhter Gefäßpermeabilität findet man deshalb eine sekundäre und selektive Akkumulation von ICG. Die Laserbestrahlung, die eine durch energiereiches Licht induzierte chemische Veränderung in den bestrahlten Tumorgeweben verursacht, muß in diesem Fall nicht unmittelbar nach der ICG-Injektion erfolgen, sondern kann vorgenommen werden, wenn sich kein ICG mehr in der Blutbahn befindet.

Mit einer ersten Injektion des ICG-Präparats wird die Permeabilität der Gefäße, das Akkumulationsvermögen eines Tumors und seine Ausdehnung mittels Fluoreszenz bei 830 nm bestimmt. Durch die erste Injektion wird die ICG-Bindungs-kapazität der Leber teilweise gesättigt, so daß eine weitere Injektion zu einer höheren ICG-Plasmakonzentration führt und dadurch das therapeutische Fenster erweitert wird.

In Abhängigkeit vom Vaskularisierungsgrad des Tumors (i. e. Gehalt an Blutgefäßen) wird das ICG-Präparat entweder als zweiter intravenöser Bolus oder als intravenöse Infusion gegeben. Eine zweite Bolusgabe wird vorwiegend bei gefäß-ärmeren Tumoren durchgeführt, wobei die Darstellung und die erhöhte Absorption des Tumors durch Bestrahlung mit Infrarotlicht mittels eines Diodenlasers primär nach Verschwinden von ICG aus dem Blutkreislauf gelingt. Eine kontinuierliche ICG-Infusion wird bei besonders gut vaskularisierten Tumoren einer Bolusgabe vorgezogen. Diese Tumore können primär über das Tumorgefäßsystem im Fluoreszenz-Infrarotbild dargestellt und mit Infrarotlicht zerstört werden. In jedem Fall kann mittels ICG eine höhere Infrarotlichtabsorption bei 805 nm im Tumor erreicht werden. Dabei ist die kontinuierliche Bestimmung der ICG-Konzentration im Gewebe über Fluoreszenz-messung wichtig, um gegebenenfalls die Lichtenergie bei 805 nm mit abnehmender ICG-Konzentration erhöhen zu können. Dies

geschieht durch Fluoreszenzanregung des Wirkstoffes durch Licht mit einer Wellenlänge von ca. 700 nm, das von einer Wolfram-Halogenlampe erzeugt wird.

Die Gewebe- bzw. Gefäßkoagulation und damit der therapeutische Erfolg wird mit Hilfe einer dritten Injektion überprüft. Tritt keine mit ICG feststellbare Perfusion des Tumors auf, kann von einem therapeutischen Erfolg ausgegangen werden. Die Dosierung von ICG sollte 5 mg/kg/Tag nicht überschreiten.

Zur Durchführung der photodynamischen Therapie mit ICG wird eine einfache und kostengünstige Geräteausstattung angestrebt, die es auch niedergelassenen Ärzten ermöglicht, kleinere operative Eingriffe nach dieser Methode vorzunehmen.

Die kontinuierliche Bestimmung der ICG-Konzentration ist für die Bestrahlungsdauer und -intensität mit einem Diodenlaser bei 805 nm entscheidend und kann online über die Messung der Fluoreszenz bei 830 nm durchgeführt werden. Parallel zur Laserbehandlung sollte die ICG-Akkumulation im Gewebe und damit die genaue Lokalisation der Tumorgrenzen auf einem Bildmonitor verfolgt werden können. Eine Differenzbildanalyse (vor und nach der Laserbehandlung) mit anschließender therapeutischer Kontrolle ist vorteilhaft.

In der Dermatologie ist zur Behandlung von flachen Tumoren (anschließende Ausweitung auf andere Disziplinen, z. B. endoskopische Chirurgie möglich) ein Gerät in Form eines Dermatoskops einsetzbar. Für unebene Tumore könnte ein Handstück (ähnlich einem sehr kleinen Mikroskop/Kapillaranemometer), das die Fokussierung über einen bestimmten Abstand hinweg ermöglicht, verwendet werden.

Neben vaskulären Malformationen und anderen vom Gefäßsystem ausgehenden Tumoren sollen z. B. Neurofibrome, Mammakarzinome oder Colonkarzinome mit ICG als Therapeutikum behandelt werden. Weitere mögliche Indikation sind Virusinduzierte Gewebeveränderungen, wie z. B. Condylomata acuminata Infektionen. Als Standardtherapie wird derzeit zur

- 7 -

Behandlung ein CO₂-Laser eingesetzt. Allerdings wird dadurch das Gewebe vaporisiert und es entstehen Viruspartikel im Abbrand mit der Gefahr der Infektion des behandelnden Personals. Eine Koagulation mit ICG läßt dagegen keinen Abbrand bei der Laserbehandlung entstehen. Ein sekundäres Infektionsrisiko ist deshalb sehr gering.

Ansprüche

1. Indocyaningrün (ICG) oder ICG-Antikörperkonjugat, gegebenenfalls in Mischung mit üblichen Arzneimittelzusätzen oder -trägern, zur therapeutischen Behandlung von Tumoren.

2. Verwendung von Indocyaningrün (ICG) oder ICG-Antikörperkonjugat zur Herstellung von Arzneimitteln für die therapeutische Behandlung von Tumoren.

3. Verwendung von ICG zur Herstellung von Antikörperkonjugaten.

4. Verwendung von ICG nach Anspruch 3 zur Herstellung von monoklonalen Tumor-Antikörperkonjugaten.